FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Smooth Muscle Actin
Clon 1A4
Ready-to-Use
(Link)

Nº de catálogo IR611

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Smooth Muscle Actin, Clon 1A4, Ready-to-Use, (Link), está indicado para su uso en inmunohistoquímica junto con los Autostainer Link instruments. Este anticuerpo marca células del músculo liso, miofibroblastos y células mioepiteliales, y es útil para identificar leiomiomas, leiomiosarcomas (1) y adenomas pleomórficos (2). La identificación diferencial se complementa con los resultados de un panel de anticuerpos. La interpretación clínica de los resultados de cualquier tinción, o su ausencia, debe complementarse con estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un patólogo calificado dentro del contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Ingreso de datos y explicación

Las actinas citoplásmicas, que pertenecen al sistema de microfilamentos de las proteínas citoesqueléticas, son algunas de las proteínas eucarióticas más conservadas que se expresan en mamíferos y aves. La proteína actina está compuesta por seis isoformas con diversas secuencias de aminoácidos, pero todas poseen la misma masa molecular de 42 kDa. Las isoformas muestran una homología secuencial total que supera el 90%, pero su homología sólo es del 50–60% en sus 18 residuos N-terminales. La región N-terminal parece ser una zona antigénica importante (3). Existen distintas isoformas α específicas para los tejidos musculares, es decir, α–músculo esquelético, α–músculo cardíaco y α–músculo liso, respectivamente (4). Las actinas β y γ pueden estar presentes en las células musculares como también en casi todos los demás tipos de células del cuerpo, inclusive en las células no musculares (5).

Consulte las *Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica* de Dako o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHQ para: 1) Principio del procedimiento, 2) Material necesario pero no suministrado, 3) Almacenamiento, 4) Preparación de la muestra, 5) Procedimiento de tinción, 6) Control de calidad, 7) Solución de problemas, 8) Interpretación de la tinción y 9) Limitaciones generales.

Reactivo suministrado

Anticuerpo monoclonal de ratón listo para su uso proporcionado en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizante y 0,015 mol/L de azida de sodio.

Clon: 1A4. El clon 1A4 es idéntico al anti-asm-1 descrito en (3). Isotipo: IgG2a, kappa.

Inmunógeno

Decapéptido sintético N-terminal de la actina α-músculo liso junto con hemocianina de la lapa californiana (KLH) (4).

Especificidad

En transferencias de Western e inmunotransferencias SDS-PAGE de la isoforma α de la actina de músculo liso, el anticuerpo marca una banda que corresponde a la actina α de músculo liso (3).

Como se demostró por transferencia de Western o inmunocitoquímica, el anticuerpo reacciona en forma cruzada con la proteína equivalente a la α actina de músculo liso en pollos, vacas y ratas (3).

Precauciones

1. Para usuarios profesionales.
2. Este producto contiene azida de sodio (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificada como peligrosa, la azida de sodio puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre formando acumulaciones de azidas metálicas altamente explosivas. Una vez desechado, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.
3. Al igual que con cualquier producto de origen biológico, deberán aplicarse los procedimientos de manipulación adecuados.
4. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
5. La solución que no se utilice deberá desecharse de acuerdo con las normativas locales, provinciales y nacionales.

Almacenamiento

Almacenar a 2–8 °C. No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario debe comprobar dichas condiciones. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad de este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán analizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. En caso de observarse una coloración inesperada que no puede ser explicada por las variaciones en los procedimientos del laboratorio y se sospecha la existencia de un problema con un anticuerpo, comuníquese con la Asistencia Técnica de Dako.

Preparación de las muestras incluido material necesario pero no suministrado

El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de aproximadamente 4 µm.

Se requiere el tratamiento previo con recuperación del epítopo inducida por calor (HIER) usando Dako PT Link (nº de catálogo PT100/PT101). Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link. Se obtienen resultados óptimos al pretratar los tejidos con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8000/K8004).

Cortes incluidos en parafina: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido fijados en formol e incluidos en parafina siguiendo el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1 para Dako PT Link. Siga el procedimiento previo al tratamiento explicado en el prospecto de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

pH (50x) (nº de catálogo K8000/K8004). Nota: Después de la tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un medio de montaje permanente.

Cortes desparafinados: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido desparafinados, fijados en formol e incluidos en parafina usando Dako PT Link y siguiendo el mismo procedimiento descrito para los cortes incluidos en parafina. Tras la tinción, los portaobjetos deben montarse utilizando un medio de montaje acuoso o permanente.

Los cortes de tejido no se deben secar durante el tratamiento ni durante el siguiente procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides (nº de catálogo K8020).

Procedimiento de tinción incluido material necesario pero no suministrado

El sistema de visualización recomendado es EnVision™ FLEX, High pH (Link) (nº de catálogo K8000). Los pasos de tinción y los tiempos de incubación han sido preprogramados en el software del Autostainer Link. El volumen de reactivo recomendado es de 1 x 200 µL o 2 x 150 µL por portaobjetos. Consulte la Guía del usuario del Autostainer Link para ver instrucciones detalladas sobre la carga de portaobjetos y reactivos. Si todavía no están disponibles los protocolos en el instrumento Autostainer utilizado, comuníquese con el servicio técnico de Dako. Todos los pasos de incubación deben realizarse a temperatura ambiente.

Las condiciones óptimas pueden variar dependiendo de la muestra y del método de preparación, y deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. Si el patólogo encargado de la evaluación desea otra intensidad de tinción, se pueden ajustar los tiempos de incubación y la elección del sistema de visualización EnVision™ FLEX/EnVision™ FLEX+. Se puede solicitar información a un especialista en aplicaciones de Dako o a un especialista del servicio técnico para reprogramar el protocolo. Verifique que el resultado del protocolo ajustado siga siendo válido confirmando que el patrón de tinción sea idéntico al descrito en “Características de resultados”.

Se recomienda la contratinción en hematoxilina usando EnVision™ FLEX Hematoxylin (Link) (nº de catálogo K8008). Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente.

Los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El control positivo de tejido debe incluir colon e hígado, y las células/estructuras deben exhibir patrones de reacción como se describe para estos tejidos en “Características de resultados” en todas las muestras positivas. El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Mouse, (Link) (nº de catálogo IR750).

Interpretación de la tinción

Las células marcadas por el anticuerpo muestran tinción citoplasmática.

Características de resultados

Tejidos normales: El anticuerpo marca células del músculo liso en vasos sanguíneos y, además, conductos salivales y células mioepiteliales alrededor de los acinos en las glándulas salivales (2). También marcó positivamente células del músculo liso en 35/36 miometrios uterinos normales (1). Además, se ha observado un marcado temporal de células hepáticas perisinusoidales (6). Las células del músculo liso en la mucosa de la lamina muscularis del colon muestran una reacción de moderada a fuerte a la tinción, mientras que las células del músculo liso que recubren los sinusoides hepáticos tienen una reacción de débil a moderada.

Tejidos anormales: El anticuerpo marcó 24/26 leiomiomas, 6/7 leiomiomas atípicos y 21/25 leiomiosarcomas del útero, como también 13/13 leiomiosarcomas fusiformes no gastrointestinales extrauterinos (1). Además, el anticuerpo marcó una cantidad variable de células en 8/8 tumores miofibroblásticos seudosarcomatosos de la vejiga urinaria en niños (7). En adenomas pleomórficos, el anticuerpo marcó células epiteliales del tumor (células mioepiteliales) en 19/20 casos (2).

Referencias bibliográficas

1. Rizeq MN, van de Rijn M, Hendrickson MR, Rouse RV. A comparative immunohistochemical study of uterine smooth muscle neoplasms with emphasis on the epithelioid variant. Hum Pathol 1994; 25:671-7.
2. Brennan PA, Umar T, Zaki GA, Langdon JD, Spedding A, Buckley J, et al. Are myoepithelial cells responsible for the widespread expression of inducible nitric oxide synthase in pleomorphic adenoma? An immunohistochemical study. J Oral Pathol Med 2000;29:279-83.
3. Skalli O, Ropraz P, Trzeciak A, Benzonana G, Gillessen D, Gabbian G. A monoclonal antibody against α-smooth muscle actin: a new probe for smooth muscle differentiation. J Cell Biol 1986; 103:2787-96.
4. Roholl PJM, Elbers HRJ, Prinsen I, Claessens JAJ, van Unnik JAM. Distribution of actin isoforms in sarcomas: an immunohistochemical study. Hum Pathol 1990; 21:1269-74.
5. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. The cytoskeleton. In: Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD, editors. Molecular biology of the cell. 2nd ed. New York and London: Garland Publishing; 1989. p. 613-629.
6. Schmitt-Gräff A, Krüger S, Bochard F, Gabbiani G, Denk H. Modulation of alpha smooth muscle actin and desmin expression in perisinusoidal cells of normal and diseased livers. Am J Pathol 1991; 138:1233-42.
7. Hojo H, Newton WA, Hamoudi AB, Qualman SJ, Wakasa H, Suzuki S, et al. Pseudosarcomatous myofibroblastic tumor of the urinary bladder in children: a study of 11 cases with review of the literature. Am J Surg Pathol 1995; 19:1224-36.

Explicación de los símbolos

REF	Referencia	2 °C 8 °C	Limitación de temperatura		Fecha de caducidad
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*	Σ	Contiene suficiente para <n> ensayos		Fabricante
	Consulte las instrucciones de uso	LOT	Código del lote		

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17